

## P. ENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 06 November 1998 (06.11.98)	
International application No. PCT/EP98/01438	Applicant's or agent's file reference 1997/FO77
International filing date (day/month/year) 12 March 1998 (12.03.98)	Priority date (day/month/year) 21 March 1997 (21.03.97)
Applicant SEEMANN, Gerhard et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

15 October 1998 (15.10.98)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer Lazar Joseph Panakal</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Translation**

PATENT COOPERATION TREATY

**PCT**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

8

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 1997/FO77	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/01438	International filing date (day/month/year) 12 March 1998 (12.03.1998)	Priority date (day/month/year) 21 March 1997 (21.03.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/42		
Applicant HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 4 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 15 October 1998 (15.10.1998)	Date of completion of this report 21 June 1999 (21.06.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer  Telephone No. 49-89-2399-0

THIS PAGE BLANK (USPTO)

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/01438

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-12, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. \_\_\_\_\_, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. 1-9, filed with the letter of 18 March 1999 (18.03.1999),  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP98/01438

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 1 (in part), 2-3, 4-9 (in part)

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. \_\_\_\_\_  
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_  
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☒ the claims, or said claims Nos. 1 (in part), 2-3, 4-9 (in part) are so inadequately supported  
by the description that no meaningful opinion could be formed:

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.  
PCT/EP 98/01438

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1 (in part), 4-9 (in part)	<b>YES</b>
	Claims		<b>NO</b>
Inventive step (IS)	Claims	1 (in part), 4-9 (in part)	<b>YES</b>
	Claims		<b>NO</b>
Industrial applicability (IA)	Claims		<b>YES</b>
	Claims		<b>NO</b>

**2. Citations and explanations**

See Supplemental Sheet

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: VI :

See Supplemental Sheet

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III, V and VI:

**Box III**

1. The problem addressed by the application (cf. page 2, second paragraph, in conjunction with Claim 1) is to identify immunosuppressants which, after discontinuation of concomitant immunosuppressive therapy, prevent the rapid destruction of transgenic cells which have been transfected by a recombinant adenovirus vector; and thus the problem is to increase mammalian tolerance to such transgenic cells. Expression of the transgenic product or products *in vivo* is thereby maintained for a longer period.
- 1.2 The phrase "**tolerance to transgenic cells**" means that, after termination of concomitant immunosuppressive therapy, the transgenic cells are in a position to produce the transgenic expression products *in vivo* for longer than in mammals of a control group which has not undergone immunosuppressive therapy (cf. page 3, second paragraph of the description).
2. Page 2, third paragraph, of the description states that only certain immunosuppressants exhibit the required activity, and that FK 506 and cyclosporin A are not suitable for this purpose. Immunosuppressants said to be suitable are deoxyspergualin, anti-T-cell antibodies,

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III, V and VI:

corticosteroids, azathioprine, methotrexate or compounds of formula (I) and (II) (cf. page 3, first paragraph, and pages 6 to 7 of the description).

2.1 The assumption that anti-T-cell antibodies, corticosteroids, azathioprine, methotrexate or compounds of formula (I) and (II) solve the stated problem finds no technical support in the description, however. [It should be noted that the experimental examples in the application show only that deoxyspergualin has an advantageous effect over cyclosporin A and FK 506].

2.2 Since, with the exception of deoxyspergualin, the subject matter of the present Claims 1 to 9 is inadequately supported by the description, no meaningful opinion can be given on these claims.

**Box V**

3. For the purpose of this report on novelty, inventive step and industrial applicability, Claim 1 has been read as if it were limited to the use of deoxyspergualin. Dependent claims 4 to 9 have been interpreted accordingly.

4. Claim 1 and its dependent claims 4 to 9 satisfy the requirements of PCT Article 33(2) and (3), because their subject matter is novel and inventive (see below).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III, V and VI:

**4.1 Novelty:**

None of the search report citations (disregarding the category P citations) discloses the use of deoxyspergualin to increase animal tolerance to transgenic cells after discontinuation of concomitant immunosuppressive therapy, where the transgenic cells are transfected by a recombinant adenovirus vector.

**4.2 Inventive step:**

The experimental examples in the application demonstrate that, after the discontinuation of concomitant immunosuppressive therapy, deoxyspergualin enables transgenic products to be expressed *in vivo* for a longer period than cyclosporin A, FK 506 or untreated controls, if a recombinant adenovirus is used as vector for cell transfection.

This advantageous action of deoxyspergualin is not suggested by the prior art cited in the search report.

5. The PCT does not contain uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 1 and 4 to 9 in their present form. Patentability can also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognize industrial applicability of claims to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III, V and VI:

to the first use of a known compound in a medical treatment or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

**Box VI**

6. EP-A-0 821 952 (priority: July 31, 1996; filing date: July 28, 1997; publication date: February 4, 1998).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM  
GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 23 JUN 1999

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 1997/FO77	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/01438	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 12/03/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 21/03/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61K31/42		
Anmelder HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
Diese Anlagen umfassen insgesamt 4 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  15/10/1998	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  21.06.99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Peris Antoli, B  Tel. Nr. (+49-89) 2399 8476 

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/01438

## I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

### Beschreibung, Seiten:

1-12                      ursprüngliche Fassung

### Patentansprüche, Nr.:

1-9                      eingegangen am                      24/03/1999    mit Schreiben vom    18/03/1999

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,              Seiten:
- ☐ Ansprüche,                  Nr.:
- ☐ Zeichnungen,              Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
- ☒ Ansprüche Nr. 1 (teilweise). 2-3, 4-9 (teilweise).

### Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☒ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 1(teilweise), 2-3,4-9(teilweise) sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1(teilweise),4-9(teilweise)
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1(teilweise),4-9(teilweise)
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen**

**siehe Beiblatt**

**VI. Bestimmte angeführte Unterlagen**

**1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)**

und / oder

**2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)**

**siehe Beiblatt**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Die Anmeldung (siehe Seite 2, 2. Absatz in Verbindung mit Anspruch 1) stellt sich zur Aufgabe, immunosuppressive Substanzen zu identifizieren, die nach dem Absetzen der immunosuppressiven Begleittherapie das rasche Zerstören von transgenen Zellen verhindern, die mittels eines rekombinanten Adenovirus-Vektors transfiziert worden sind, und somit die Toleranz eines Säugetiers gegenüber solche transgenen Zellen erhöhen. Dabei bleibt die Expression des oder der transgenen Produkte in vivo länger erhalten.
- 1.2 Als "**Toleranz gegenüber transgenen Zellen**" ist zu verstehen, daß die transgenen Zellen nach Beendigung der immunosuppressiven Begleittherapie länger in der Lage sind, die transgenen Expressionsprodukte in vivo herzustellen als sie es in Säugetieren einer nicht immunosupprimierten Kontrollgruppe vermögen (siehe Seite 3, 2. Absatz der Beschreibung).
2. Auf Seite 2, 3. Absatz der Beschreibung wird behauptet, daß nur bestimmte Immunosuppressiva die gewünschte Wirksamkeit aufweisen, und daß FK 506 und Cyclosporin A nicht dafür geeignet sind. Als geeignete Immunosuppressiva werden Deoxyspergualin, Anti-T-Zell-Antikörper, Corticosteroide, Azathioprin, Methotrexat oder Verbindungen der Formel (I) und (II) genannt (siehe Seite 3, 1. Absatz und Seiten 6-7 der Beschreibung).
- 2.1 Die Annahme, daß Anti-T-Zell-Antikörper, Corticosteroide, Azathioprin, Methotrexat oder Verbindungen der Formel (I) und (II) die gestellte Aufgabe lösen, findet jedoch keine technische Stützung in der Beschreibung. [Es wird angemerkt, daß die experimentellen Beispielen der Anmeldung nur eine vorteilhafte Wirkung von Deoxyspergualin gegenüber zu Cyclosporin A und FK 506 aufweisen].
- 2.2 Da, außer für Deoxyspergualin, der Gegenstand der vorliegende Ansprüche 1-9 durch die Beschreibung unzureichend gestützt ist, kann kein sinnvolles Gutachten für solche Ansprüche erstellt werden.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

3. Für die Erstellung dieses Berichtes hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit, ist Anspruch 1 so gelesen worden als ob er auf die Verwendung von Deoxyspergualin beschränkt wäre. Die abhängigen Ansprüche 4-9 sind entsprechend interpretiert worden.
4. Anspruch 1 und seine abhängigen Ansprüche 4-9 erfüllen die Erfordernisse der Art. 33(2) und 33(3) PCT weil ihr Gegenstand neu und erfinderisch ist (siehe unten).

**4.1 Neuheit:**

Keines der im Recherchenbericht zitierten Dokumente (ohne Berücksichtigung der zitierten P-Dokumente) offenbart die Verwendung von Deoxyspergualin zur Erhöhung der Toleranz eines Tieres gegenüber transgenen Zellen nach Absetzen der immunosuppressiven Begleittherapie, wobei die transgenen Zellen mittels eines rekombinanten Adenovirus-Vektors transfiziert sind.

**4.2 Erfinderische Tätigkeit:**

Die experimentellen Beispielen der Anmeldung beweisen, daß Deoxyspergualin, nach Absetzen der immunosuppressiven Begleittherapie, eine dauerhaftere Expression von transgenen Produkten in vivo ermöglicht als Cyclosporin A, FK-506 oder nicht behandelten Kontrollen, wenn man ein rekombinantes Adenovirus als Vektor für die Zelltransfektion benützt.

Diese vorteilhafte Wirksamkeit von Deoxyspergualin wird durch den im Recherchenbericht zitierten Stand der Technik nicht nahegelegt.

5. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 1, 4-9 gewerblich anwendbar sind, enthält der PCT keine eindeutigen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

**Zu Punkt VI**

**Bestimmte angeführte Unterlagen**

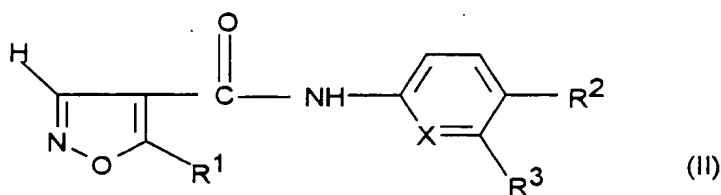
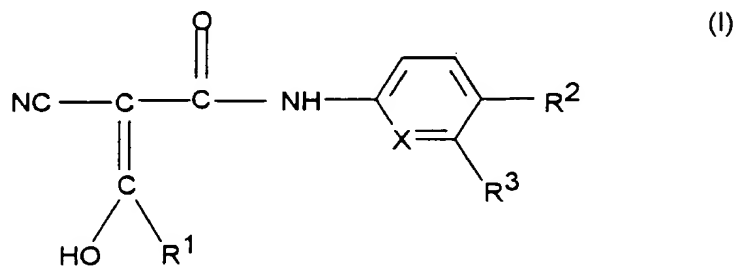
6. EP-A-0 821 952 (Priorität: 31.07.96; Anmeldetag: 28.07.97; Veröffentlichungstag: 04.02.98).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## Patentansprüche:

1. Verwendung von 15-Deoxyspergualin, Anti-T-Zell-Antikörper, Corticosteroid, Azathioprin, Methotrexat oder eine Verbindung der Formel (I) oder (II)



und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I oder II und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

- R<sup>1</sup> für a) (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl,  
 b) (C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>)-Cycloalkyl,  
 c) (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)-Alkenyl oder  
 d) (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)-Alkynyl, steht,

- R<sup>2</sup> für a) -CF<sub>3</sub>,  
 b) -O-CF<sub>3</sub>,  
 c) -S-CF<sub>3</sub>,  
 d) -OH,  
 e) -NO<sub>2</sub>,  
 f) Halogen,  
 g) Benzyl,  
 h) Phenyl,  
 i) -O-Phenyl,

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

- k) -CN oder
- l) -O-Phenyl, ein oder mehrfach substituiert mit
  - 1) (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl,
  - 2) Halogen,
  - 3) -O-CF<sub>3</sub> oder
  - 4) -O-CH<sub>3</sub>, steht,
- R<sup>3</sup> für
  - a) (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl,
  - b) Halogen, oder
  - c) ein Wasserstoffatom steht, und
- X für
  - a) eine -CH-Gruppe oder
  - b) ein Stickstoffatom, steht

zur Herstellung eines Arzneimittels zur Erhöhung der Toleranz eines Säugetiers, insbesondere des Menschen, gegenüber transgenen Zellen, nach Absetzen der immunosuppressiven Begleittherapie, wobei die transgenen Zellen mittels eines rekombinanten Adenovirus-Vektors transfiziert sind.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung der Formel I und/oder II und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I oder II und/oder ein Salz der Verbindung der Formel I, wobei

- R<sup>1</sup> für
  - a) Methyl,
  - b) Cyclopropyl oder
  - c) (C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkyl steht,
- R<sup>2</sup> für -CF<sub>3</sub> oder -CN steht,
- R<sup>3</sup> für Wasserstoffatom oder Methyl steht, und
- X für eine -CH- Gruppe steht, eingesetzt wird.

3. Verwendung gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methyl-isoxazol-4-carboxamid, N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyan-3-hydroxy-crotonsäureamid, 2-Cyan-3-cyclopropyl-3-hydroxy-acrylsäure-(4-cyanophenyl)-amid oder N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyan-3-hydroxy-hept-2-en-6-in-carbonsäureamid eingesetzt wird.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

4. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Arzneimittel oder die Arzneimittelkombination vor, während und/oder nach der Applikation der in vitro erzeugten transgenen Zellen oder der in vivo-Erzeugung der transgenen Zellen verabreicht wird.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die transgenen Zellen im Rahmen einer gentherapeutischen Behandlung erzeugt werden.
6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die gentherapeutische Behandlung eingesetzt wird zur Behandlung aller Erkrankungen, bei denen ein Protein oder Peptid nicht, unzureichend oder nur fehlerhaft im Körper des Säugetiers, insbesondere des Menschen, hergestellt wird.
7. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die gentherapeutische Behandlung eingesetzt wird zur Behandlung von angeborenen Erkrankungen wie der zystischen Fibrose, der familiären Hypercholesterinämie, der Hämophilie, der Sichelzellenanämie, von Nerven- und Hirnerkrankungen wie Parkinson-, Alzheimer- oder Jakob-Kreutzfeld-Syndrom; von rheumatischen Erkrankungen, Osteoarthritis, Osteoporose oder Arthrose, der Phenylketonurie; von Stoffwechselstörungen, wie Diabetes; von Entzündungen; von Krebserkrankungen; von Infektionserkrankungen, beispielsweise AIDS oder Hepatitis oder von Hormon- und Wachstumsstörungen.
8. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die gentherapeutische Behandlung eingesetzt wird, um einen Impfschutz zu erzeugen gegen Krankheitserreger wie Viren, Bakterien, Pilze, ein- und mehrzellige Parasiten sowie gegen entartete körpereigene Zellen wie Tumorzellen.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

9. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Arzneimittel oder die Arzneimittelkombination oral, intravenös, subkutan, intraperitoneal, perkutan, kutan, topisch, inhalativ, intramuskulär, intrathekal, intraokulär, okulär, buccal, nasal oder rektal, bevorzugt intravenös oder oral verabreicht wird.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
IM GEBIET DES PATENTWESENS

# PCT

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>1997/F077</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 98/ 01438</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>12/03/1998</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>21/03/1997</b>
Anmelder  <b>HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

- ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nichtrecherchierbar erwiesen (siehe Feld I).
- ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).
- ☐ In der internationalen Anmeldung ist ein Protokoll einer Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz offenbart; die internationale Recherche wurde auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt,
  - ☐ das zusammen mit der internationalen Anmeldung eingereicht wurde.
  - ☐ das vom Anmelder getrennt von der internationalen Anmeldung vorgelegt wurde,
    - ☐ dem jedoch keine Erklärung beigefügt war, daß der Inhalt des Protokolls nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der eingereichten Fassung hinausgeht.
  - ☐ das von der Internationalen Recherchenbehörde in die ordnungsgemäße Form übertragen wurde.
- Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung
  - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
  - ☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt.
- Hinsichtlich der Zusammenfassung
  - ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
  - ☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der Feld III angegebenen Fassung von dieser Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Internationalen Recherchenbehörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.
- Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen:
 

Abb. Nr. _____	<input type="checkbox"/> wie vom Anmelder vorgeschlagen	<input checked="" type="checkbox"/> keine der Abb.
	<input type="checkbox"/> weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.	
	<input type="checkbox"/> weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr. —  
weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. —  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

Siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210

3. ☐ Ansprüche Nr. —  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. —
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
 IPK 6 A61K31/42 A61K31/275

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HAYASHI ET AL.: "Adenovirus-Mediated Gene Transfer To The Xenogeneid Liver in Liver Xenotransplantation: The Transduction of Complement Regulatory Factor Genes (DAF and HRF20)" CELL TRANSPLANTATION, Bd. 5, Nr. 5 suppl 2, 1996, Seite 73 XP002074074 ✓	1-6
Y	siehe das ganze Dokument ---	10-12
X	WO 96 40170 A (PROCEPT INC) 19. Dezember 1996	1-5, 13-15
Y	siehe Zusammenfassung; Ansprüche 3,10,13 ---	10-12
	--- -/-	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahellegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. August 1998

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

25/08/1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

A. Jakobs

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GREENE ET AL.: "INHIBITION OF DIHYDROOROTATE DEHYDROGENASE BY THE IMMUNOSUPPRESSIVE AGENT LEFLUNOMIDE" BIOCHEM. PHARMACOL., Bd. 50, Nr. 6, 1995, Seiten 861-867, XP002074075	1-7
Y	siehe Zusammenfassung; Abbildungen 1,2 ---	10-12
X	BARTLETT ET AL.: "Leflunomide (HWA 486), a novel immunomodulating compound for the treatment of autoimmune disorders and reactions leading to transplantation rejection" AGENTS ACTIONS, Bd. 32, Nr. 1-2, 1991, Seiten 10-21, XP002074076 siehe Zusammenfassung; Tabellen 1-4 ---	1-5,7-12
X	SOLBACH ET AL.: "PROTECTIVE EFFECT OF LEFLUNOMIDE ON THE NATURAL COURSE OF LEISHMANIA MAJOR-INDUCED DISEASE IN GENETICALLY SUSCEPTIBLE BALB/c MICE" INT. J. IMMUNOPHARMACOL., Bd. 17, Nr. 6, 1995, XP002074077 siehe Zusammenfassung; Abbildung 1; Tabelle 1 ---	1-5,8, 10-12
X	KALDEN ET AL.: "New therapeutic approaches in autoimmune rheumatic diseases, with special emphasis on rheumatoid arthritis" BRITISH J. RHEUMATOL., Bd. 34, Nr. 3, 1995, Seiten 193-196, XP002074078 siehe Seite 193, Spalte 1, Absatz 2; Tabelle 1 ---	1-5,7, 10-12
X	ZIELINSKI T ET AL: "LEFLUNOMIDE, A REVERSIBLE INHIBITOR OF PYRIMIDINE BIOSYNTHESIS?" INFLAMMATION RESEARCH, Bd. 44, Nr. 2, August 1995, Seite S207/S208 XP002061643 siehe Zusammenfassung ---	1-5,8
X	EP 0 607 775 A (HOECHST AG) 27. Juli 1994 siehe Ansprüche 1-4 ---	1-5,7,8
X	REYNOLDS: "MARTINDALE - THE EXTRA PHARMACOPOEIA. " 1996, ROYAL PHARMACEUTICAL SOCIETY, LONDON XP002074427 224540 siehe Seite 557-562 - Seite 599-600 ---	1
	--- -/--	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	EP 0 821 952 A (HOECHST AG) 4. Februar 1998 siehe Ansprüche 4,8,10 ----	1-5,7-12
P,X	BURG G.: "Dermatologie 1997: Immunintervention auf dem Vormarsch" SCHWEIZERISCHE MEDIZINISCHE WOCHENSCHRIFT, Bd. 128, Nr. 1-2, 1998, Seiten 18-20, XP002074079 siehe Seite 19, Spalte 1, Absatz 3 ----	1-5,7
A	EP 0 551 230 A (ROUSSEL UCLAF) 14. Juli 1993 siehe das ganze Dokument -----	10-12

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

P/EP 98/01438

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9640170	A	19-12-1996	NONE	
EP 0607775	A	27-07-1994	JP 6234635 A US 5556870 A	23-08-1994 17-09-1996
EP 0821952	A	04-02-1998	DE 19640555 A AU 3236897 A JP 10087484 A	02-04-1998 05-02-1998 07-04-1998
EP 0551230	A	14-07-1993	AT 125252 T AU 652088 B AU 3103593 A BR 9300035 A CA 2086908 A CN 1079216 A, B CZ 9203826 A DE 69300261 D DK 551230 T ES 2074916 T FI 930048 A IL 104225 A JP 5310672 A NO 179444 B NZ 245631 A US 5308865 A ZA 9300134 A	15-08-1995 11-08-1994 15-07-1993 13-07-1993 09-07-1993 08-12-1993 16-03-1994 24-08-1995 10-03-1997 16-09-1995 09-07-1993 04-01-1998 22-11-1993 01-07-1996 22-12-1994 03-05-1994 10-01-1994

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>A61K 31/42, 31/275</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/42338</b> <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 1. Oktober 1998 (01.10.98)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP98/01438 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 12. März 1998 (12.03.98)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 197 11 800.3      21. März 1997 (21.03.97)      DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> SEEMANN, Gerhard [DE/DE]; Weißdornweg 32, D-35041 Marburg-Elnhausen (DE). CICHON, Günter [DE/DE]; Lützowstrasse 93, D-10785 Berlin (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AU, BR, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, MX, PL, RU, TR, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen</i> <i>Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen</i> <i>eintreffen.</i>
<b>(54) Title:</b> EXTENSION OF THE EXPRESSION OF TRANSGENIC PROTEINS BY IMMUNOMODULATION  <b>(54) Bezeichnung:</b> VERLÄNGERUNG DER EXPRESSION VON TRANSGENEN PROTEINEN DURCH IMMUNMODULIERENDE BEHANDLUNG  <b>(57) Abstract</b>  The invention relates to the use of one or several immunosuppressors to produce a medicament to enhance transgenic cell tolerance in mammals. The invention also relates to a method for identifying immunosuppressors which are suitable therefor. The use of said medicaments enables the production of transgenic expression products to be substantially extended even after discontinuation of immunosuppressive treatment.  <b>(57) Zusammenfassung</b>  Die Erfindung betrifft die Verwendung eines oder mehrerer Immunsuppressiva zur Herstellung eines Arzneimittels, um die Toleranz eines Säugetiers gegenüber transgenen Zellen zu erhöhen, sowie ein Verfahren zum Identifizieren hierfür geeigneter Immunsuppressiva. Durch den Einsatz derartiger Arzneimittel wird die Produktion des transgenen Expressionsproduktes auch nach Absetzen der immunsuppressiven Behandlung deutlich verlängert.		

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

## Verlängerung der Expression von transgenen Proteinen durch immunmodulierende Behandlung

Die Erfindung betrifft die Verwendung eines oder mehrerer Immunsuppressiva zur Herstellung eines Arzneimittels, um die Toleranz eines Säugetiers gegenüber transgenen Zellen zu erhöhen, sowie ein Verfahren zum Identifizieren hierfür geeigneter Immunsuppressiva. Durch den Einsatz derartiger Arzneimittel wird die Produktion des transgenen Expressionsproduktes auch nach Absetzen der immunsuppressiven Behandlung deutlich verlängert.

Es ist bekannt, daß die Einschleusung von genetischem Material in Zellen eines Säugetiers, eines Menschen oder auch diverser Tiere wie Pferde, Schafe, Kühe, Ziegen, Schweine, Hunde, Mäuse oder Ratten, in vivo häufig eine immunologische Reaktion hervorruft. So werden die transgenen Zellen beispielsweise durch zytotoxische Immunzellen abgetötet und damit durch diese zelluläre Immunreaktion die über das eingeschleuste genetische Material bewirkte Expression eines oder mehrerer Proteine oder Peptide beendet. Eine humorale Immunreaktion wiederum erschwert oder verhindert die erneute Einschleusung des genetischen Materials, z.B. durch die Neutralisation der Vektoren mittels spezifischer Antikörper (Tripathy S.K. et al., nat. Med:2(5), 1996, Seiten 545-550; Jang J. et al., Gene Ther. 3(2): 1996, Seiten 137-144).

Um eine unerwünschte Immunreaktion bei einer transgene Zellen erzeugenden Gentherapie zu unterdrücken oder zu verhindern, wurden daher immunsuppressiv wirkende Substanzen im Rahmen einer Begleittherapie eingesetzt. Als nachteilig erwiesen sich jedoch die zum Teil damit verbundenen unangenehmen Nebenwirkungen sowie die erhöhte Infektanfälligkeit von immunsupprimierten Organismen, die einer längeren Gabe von Immunsuppressiva entgegenstehen (Lochmüller et al. Gene Ther. 3(8), 1996, Seiten 706-716).

In WO 96/12406 wurde beschrieben, daß durch eine immunsuppressive Begleittherapie die humorale Immunantwort gegen einen Adenovirus-Vektor

unterdrückt werden kann und daß dadurch eine wiederholte Vektorgabe ermöglicht wird. Neben der Verwendung von Steroiden wie Dexamethason werden vor allem Cyclosporin A und 1-Amino-19-guanidin-11-hydroxy-4,9,12-triazanondecan-10,13-dion-trihydrochlorid (Deoxyspergualin; im folgenden DSG genannt) für diesen Zweck empfohlen.

Aufgabe der Erfindung ist die Identifizierung von Substanzen, die nachhaltig - also auch nach dem Absetzen der immunsuppressiven Begleittherapie - das rasche Zerstören der transgenen Zellen verhindern und somit die Toleranz eines Säugetiers gegenüber transgenen Zellen erhöhen. Damit bleibt die Expression des oder der transgenen Produkte in vivo länger erhalten. Folglich könnte eine wiederholte Applikation des genetischen Materials unterbleiben oder zumindest von der Häufigkeit her eingeschränkt werden.

Es wurde gefunden, daß nur bestimmte Immunsuppressiva die gewünschte Wirksamkeit aufweisen. Nicht geeignet waren beispielsweise FK 506 und das in WO 96/12406 besonders empfohlene Cyclosporin A.

Die Aufgabe wird daher erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zum Identifizieren eines geeigneten Immunsuppressivums oder einer Kombination mehrerer Immunsuppressiva, die die Toleranz eines Säugetiers gegenüber transgenen Zellen erhöhen, sowie deren Verwendung zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer Arzneimittelkombination zur Erhöhung der Toleranz eines Säugetiers, insbesondere des Menschen, gegenüber transgenen Zellen.

Von der Erfindung umfaßt wird die Verwendung eines Immunsuppressivums oder einer Kombination mehrerer Immunsuppressiva zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer Arzneimittelkombination zur Erhöhung der Toleranz eines Säugetiers, insbesondere des Menschen, gegenüber transgenen Zellen. Hiermit ist gemeint, daß das oder die Immunsuppressiva in Form eines einzigen Arzneimittels verabreicht werden können oder in Form mehrerer Arzneimittel, die wiederum jeweils ein oder mehrere Immunsuppressiva enthalten können.



Immunsuppressiva sind Substanzen, die in der Lage sind, immunologische Reaktionen zu unterdrücken oder abzuschwächen. Sie werden vor allem in der Transplantationsmedizin und zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten verwendet. Geeignete Immunsuppressiva sind beispielsweise N-(4-Trifluormethylphenyl-5-methyl-isoxazol-4-carboxamid (Leflunomid), DSG, Anti-T-Zell-Antikörper, Corticosteoride, Azathioprin, Cyclophosphamid oder Methotrexat. Die chemische Struktur des Immunsuppressivums ist - vom allgemeinen Erfindungsgedanken gesehen - unerheblich, da das entscheidende Merkmal in seiner Wirkung begründet ist, die Toleranz gegenüber transgenen Zellen zu erhöhen.

Als Toleranz gegenüber transgenen Zellen wird verstanden, daß die transgenen Zellen nach Beendigung der erfindungsgemäßen immunsuppressiven Begleittherapie länger in der Lage sind, die transgenen Expressionsprodukte in vivo herzustellen als sie es in Säugetieren einer nicht immunsuppremierten Kontrollgruppe vermögen.

Transgene Zellen sind Zellen jeglicher Art, also tierische, pflanzliche oder bakterielle Zellen, bevorzugt Zellen von Säugetieren, ganz besonders bevorzugt menschliche Zellen, in die genetisches Material eingeschleust worden ist.

Unerheblich ist für den allgemeinen Erfindungsgedanken das mit der Herstellung der transgenen Zellen verbundene Ziel, beispielsweise eine gentherapeutische Behandlung oder aber die Nutzung eines Tieres mit transgenen Zellen als Wirkstoffproduzent. Des weiteren ist auch weder das Herstellverfahren der transgenen Zellen noch das genetische Material per se für die Erfindung von ausschlaggebender Bedeutung. Das eingeschleuste genetische Material kann beispielsweise aus einer oder mehreren Desoxyribonukleinsäure- und/oder Ribonukleinsäureketten bestehen. Die Nukleinsäureketten können Promotoren, diverse andere genregulatorische Steuerungsfunktionen, Sequenzen für einen spezifischen Einbau ins zelluläre Genom und/oder Gensequenzen enthalten, die für spezifische Proteine oder Peptide kodieren. Das eingeschleuste genetische Material kann gegenüber dem zellulären Genom artfremd oder artgleich sein oder sogar vom

selben Individuum abstammen. Auch eine Kombination derselben ist möglich. Das oder die spezifischen transgenen Expressionsprodukte können nicht-natürliche oder natürliche, beispielsweise menschliche, tierische, pflanzliche, bakterielle oder virale Proteine oder Peptide darstellen. Beispiele sind Enzyme, Rezeptoren, Botenstoffe, Hormone, Wachstumsfaktoren, Gerinnungsfaktoren, Apolipoproteine, den Stoffwechsel oder die Zellteilung beeinflussende Faktoren, entzündungshemmende Faktoren, Inhibitoren oder Aktivatoren des Zellzyklusses sowie intrazellulärer Signalketten, Tumorsuppressoren, Elemente des Zytoskeletts oder des Bindegewebes, Antigene von Krankheitserregern oder Parasiten sowie tumor-assoziierte Antigene. Weitere Beispiele sind Insulin; Hirudin; Faktor VIII; Faktor IX; Faktor XIII; von Willebrand-Faktor; Antikörper; Erythropoitin; menschliches Wachstumshormon; "Growth factors" wie EGF, TGF $\alpha$ , TGF $\beta$ , GM-CSF, PDGF, Nerve growth factor und andere; "Tumor necrosis factor"; Interferone; Interleukine; p53; Tumorthérapie; Hepatitis-Virus-Antigene; HIV-Antigene, Herpes-Virus-Antigene; Borrelia-Antigene; Plasmodium-Antigene; Trypanosomen-Antigene, Taenia-Antigene oder Humane- $\beta$ -glucuronidase.

Mit der erfindungsgemäßen Verwendung des oder der Immunsuppressiva wird insbesondere eine Inhibition der zellulären Immunantwort gegen die transgenen Zellen erreicht. Die Erfindung ist ferner gekennzeichnet, daß etwa 15 Tage nach Absetzen des immunsuppressiv wirkenden Arzneimittels oder der Arzneimittelkombination in den behandelten Säugetieren noch mehr als das 1,5-fache, bevorzugt mehr als doppelte, ganz besonders bevorzugt mehr als das 5fache an transgenem Expressionsprodukt erzeugt werden kann wie in Säugetieren einer nicht immunsuppremierten Kontrollgruppe. Der Nachweis des exprimierten transgenen Produktes muß nicht am 15. Tag erfolgen; es ist auch möglich Messungen vor oder nach diesem Zeitpunkt durchzuführen. Entscheidend ist, daß nicht schon wenige Tage, beispielsweise 10 oder 20 Tage, nach Absetzen der immunsuppressiven Behandlung, das transgene Expressionsprodukt nur in gleicher oder geringerer Menge hergestellt wird wie in nicht-immunsuppremierten Organismen einer Kontrollgruppe.

Die erfindungsgemäße Verwendung umfaßt des weiteren eine Verabreichung des

Arzneimittels oder der Arzneimittelkombination vor, während und/oder nach der Applikation der in vitro erzeugten transgenen Zellen oder deren Erzeugung in vivo. Ebenso umfaßt wird die erfindungsgemäße Verwendung zur Unterstützung einer transgene Zellen erzeugenden gentherapeutischen Behandlung.

Bei der zu unterstützenden gentherapeutischen Behandlung wird in vitro oder in vivo genetisches Material in Form von einer oder mehreren Nukleinsäureketten in Zellen eingeschleust. Dies erfolgt beispielsweise mit Hilfe viraler Vektoren, wie Adenoviren, Retroviren oder Herpesviren, oder anderen Methoden, beispielsweise über Transfektion, durch direkte Injektion, per "Gene gun", oder mit Hilfe von Liposomen, Virosomen oder Rezeptor-vermittelten Transportsystemen.

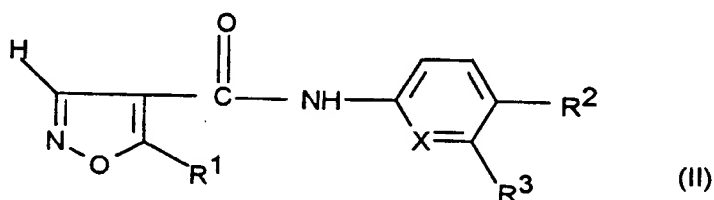
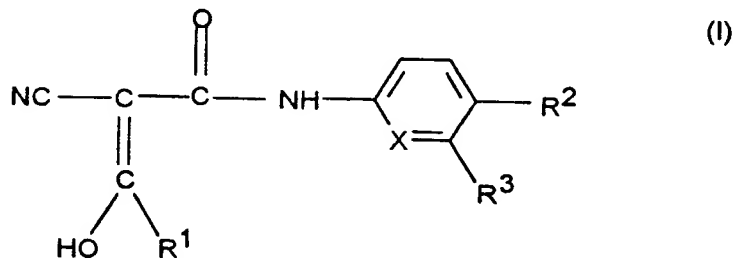
Mit der zu unterstützenden Gentherapie können Erkrankungen behandelt werden, bei denen ein Protein oder Peptid nicht, unzureichend oder nur fehlerhaft im Körper des Säugetiers hergestellt wird, aber sie findet auch Anwendung, um einen Impfschutz gegen diverse Krankheitserreger oder gegen entartete körpereigene Zellen zu erzeugen sowie für die Herstellung nicht-natürlicher Proteine oder Peptide in Körperzellen, die Aktivitäten von Enzym- oder Signalkaskaden fördernd oder inhibierend beeinflussen oder für die Herstellung von Enzymen, die spezifische Prodrugs aktivieren. So kann die zu unterstützende Gentherapie eingesetzt werden zur Behandlung von angeborenen Erkrankungen wie der zystischen Fibrose, der Hämophilie, der familiären Hypercholesterinämie, der Sichelzellenanämie, der Phenylketonurie; von Stoffwechselstörungen, wie Diabetes; von Entzündungen; von Nerven- und Hirnerkrankungen wie Parkinson, Alzheimer oder Jakob-Kreutzfeld-Syndrom; von rheumatischen Erkrankungen, Osteoarthritis, Osteoporose oder Arthrose, von Krebserkrankungen; von Infektionserkrankungen wie z.B. AIDS oder Hepatitis oder von Hormon- und Wachstumsstörungen. Die Erzeugung eines Impfschutzes gegen Krankheitserreger wie Viren, Bakterien, Pilze, ein- und mehrzellige Parasiten sowie gegen entartete körpereigene Zellen, beispielsweise Tumorzellen ist ein weiterer zu unterstützender gentherapeutischer Einsatzbereich.

Die Erfindung beinhaltet weiterhin ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer Arzneimittelkombination, um die Toleranz eines Säugetiers gegenüber

transgenen Zellen zu erhöhen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man ein Immunsuppressivum oder eine Kombination mehrerer Immunsuppressiva mit einem physiologisch annehmbaren Träger und weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete Darreichungsform bringt. Beispielsweise kann Leflunomid und/oder dessen physiologisch verträgliche und pharmakologisch wirksame Salze, Derivate, Isomere sowie Metabolite als Immunsuppressivum - allein oder in Kombination auch mit anderen Immunsuppressiva verwendet werden.

Das erfindungsgemäße Arzneimittel oder die erfindungsgemäße Arzneimittelkombination kann beispielsweise oral, intravenös, subkutan, intraperitoneal, perkutan, kutan, topisch, inhalativ, intramuskulär, intrathekal, intraokulär, okulär, buccal, nasal oder rektal, bevorzugt intravenös oder oral verabreicht werden.

Eine besonders bevorzugte Ausführungsform der Erfindung betrifft die erfindungsgemäße Verwendung einer Verbindung der Formel (I) oder (II)



und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I oder II und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

- R<sup>1</sup> für a) (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl,  
 b) (C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>)-Cycloalkyl,  
 c) (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)-Alkenyl oder

- d) (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)-Alkynyl, steht,
- R<sup>2</sup> für a) -CF<sub>3</sub>,  
b) -O-CF<sub>3</sub>,  
c) -S-CF<sub>3</sub>,  
d) -OH,  
e) -NO<sub>2</sub>,  
f) Halogen,  
g) Benzyl,  
h) Phenyl,  
i) -O-Phenyl,  
k) -CN oder  
l) -O-Phenyl, ein oder mehrfach substituiert mit  
1) (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl,  
2) Halogen,  
3) -O-CF<sub>3</sub> oder  
4) -O-CH<sub>3</sub>, steht,
- R<sup>3</sup> für a) (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl,  
b) Halogen, oder  
c) ein Wasserstoffatom steht, und
- X für a) eine -CH-Gruppe oder  
b) ein Stickstoffatom, steht

zur Herstellung des Arzneimittels oder der Arzneimittelkombination allein oder in Kombination auch mit anderen pharmakologisch wirksamen Substanzen, insbesondere anderen Immunsuppressiva.

Bevorzugt ist eine Verbindung der Formel I und/oder II und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I oder II und/oder ein Salz der Verbindung der Formel I, wobei

- R<sup>1</sup> für a) Methyl,  
b) Cyclopropyl oder  
c) (C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkynyl steht,
- R<sup>2</sup> für -CF<sub>3</sub> oder -CN steht,
- R<sup>3</sup> für Wasserstoffatom oder Methyl steht, und

X für eine -CH- Gruppe steht.

Insbesondere bevorzugt werden N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methyl-isoxazol-4-carboxamid, N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyan-3-hydroxy-crotonsäureamid, 2-Cyano-3-cyclopropyl-3-hydroxy-acrylsäure-(4-cyanophenyl)-amid oder N-(4-Trifluormethyl-phenyl)-2-cyan-3-hydroxy-hept-2-en-6-in-carbonsäureamid eingesetzt.

Diese Verbindungen der Formeln I und/oder II oder deren physiologisch verträgliche und pharmakologisch wirksame Salze oder Derivate werden beispielsweise in einer Dosis von 0,1 bis 100 mg/kg, bevorzugt 0,1 bis 50 mg/kg, ganz besonders bevorzugt 0,5 bis 20 mg/kg, verabreicht.

Die anzuwendende Dosierung ist selbstverständlich abhängig von verschiedenen Faktoren wie dem zu behandelnden Lebewesen (beispielsweise Mensch oder Tier), Alter, Gewicht, allgemeiner Gesundheitszustand, dem Schweregrad der Symptome, der zu behandelnden Erkrankung, eventuellen Begleiterkrankungen, (falls vorhanden) der Art der begleitenden Behandlung mit anderen Arzneimitteln, oder der Häufigkeit der Behandlung. Die Dosierungen werden im allgemeinen mehrfach pro Tag und vorzugsweise einmal bis dreimal pro Tag verabreicht. Die verwendeten Mengen an Einzelwirkstoff orientieren sich hierbei an der Wirkstärke der eingesetzten Verbindung der Formel I oder II.

Die geeignete Therapie mit den erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I oder II besteht somit z.B. in der Verabreichung von einer, zwei oder 3 Einzeldosierungen von N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methyl-isoxazol-4-carboxamid in einer Menge von 2 bis 20 mg, bevorzugt 10 oder 20 mg.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum Identifizieren eines geeigneten Immunsuppressivums oder einer Kombination mehrerer Immunsuppressiva, die die Toleranz eines Säugetiers gegenüber transgenen Zellen erhöhen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß die Menge an transgenem Expressionsprodukt nach 15, 30, 50 oder mehr Tagen nach Absetzen der

immunsuppressiven Behandlung einmal oder mehrmals gemessen wird, in Bezug zur Menge an transgenem Expressionsprodukt, die von nicht immunsuppremierten Säugetieren einer entsprechenden Kontrollgruppe erzeugt wurde, in Beziehung gesetzt wird und als Auswahlkriterium ein Mengenfaktor (= Menge an von der immunsuppremierten Tiergruppe erzeugten transgenen Expressionsprodukt / Menge an von der nichtimmunsuppremierten Kontrolltiergruppe erzeugten transgenen Expressionsprodukt; jeweils bezogen auf einen vergleichbaren zeitlichen Bezugspunkt) beispielsweise von mehr als 1,5, oder größer als 2, bevorzugt größer als 5, ganz besonders bevorzugt größer als 10, eingesetzt wird. Der Nachweis des exprimierten transgenen Produktes muß nicht erst ab dem 20. Tag nach Absetzen der immunsuppressiven Behandlung erfolgen. Eine kontinuierliche Verfolgung der Expressionsrate des transgenen Produktes, beispielsweise ab dem Zeitpunkt der Erzeugung der transgenen Zellen, ab dem 1. Tag nach Absetzen der immunsuppressiven Behandlung oder ab dem 10. Tag nach Absetzen der immunsuppressiven Behandlung, sind im Sinne der Erfindung durchaus möglich.

Die folgenden Beispiele dienen der Erläuterung der Erfindung. Sie sind nicht als Einschränkung irgendeiner Art zu verstehen.

#### Beispiel 1:

Cyclosporin A (50 - 100 mg/kg/Tag) und DSG (10 mg/kg/Tag) wurde den Mäusen über einen Zeitraum von 21 Tagen nach Gabe eines rekombinanten Adenovirus (Reportergen  $\beta$ -Galactosidase; Bett et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91 (1994), Seiten 8802-8806) verabreicht.

Die Kontrollgruppe erreicht ein Maximum der Reportergenexpression in der Leber am 6. Tag, danach wird die Expression durch die Aktivität zytotoxischer T-Zellen kontinuierlich abgebaut und erreicht nach etwa 21 Tagen Ausgangsniveau.

Sowohl in der Cyclosporin A-, als auch in der DSG-Gruppe hält die Expression über den Behandlungszeitraum von 21 Tagen unvermindert an.

In der Kontrollgruppe konnte bereits 5 Tage nach Vektorgabe die Bildung von Antikörpern nachgewiesen werden. In der Cyclosporin A- und der DSG-Gruppe wurde Antikörperproduktion in den oben angegebenen Dosen vollständig aufgehoben.

Nach Absetzen der Immunsuppressiva fiel die Reportergenexpression in der Cyclosporin A-Gruppe über einen Zeitraum von 21 Tagen (42 Tage nach Vektorgabe) auf Ausgangsniveau während in der DSG-Gruppe noch eine massive Genexpression nachweisbar war.

In etwa 50 % der Tiere die nur für 5 Tage nach Vektorgabe mit DSG behandelt wurden konnte am 42. Tag nach Vektorgabe noch etwa 10 % der Maximalexpression gemessen werden. Offensichtlich hemmt DSG besonders die Frühphase der T-Zellstimulation sehr effektiv.

#### Beispiel 2

Am Tag 0 wurde allen Mäusen eine Dosis von  $1 \times 10^{10}$  Adenoviren über die Schwanzvene appliziert. Die rekombinanten Adenoviren tragen als serumständiges Reportergen das Gen für humanes alpha 1-Antitrypsin. Dieses Gen hat sich als ein praktikabler Reporter erwiesen, da es in der Maus nicht antigen wirkt, aber dennoch mit einem spezifischen Antikörper vom murinen alpha 1-Antitrypsin unterschieden werden kann. Die Halbwertszeit der Antiprotease ist etwa 3 - 4 Tage, so daß der Serumspiegel recht gut die aktuelle Syntheseleistung der Leber spiegelt.

Das Gesamtkollektiv wurde in fünf Gruppen mit jeweils 4 Tieren unterteilt, die wie folgt behandelt wurden:

1. Gruppe: Kontrollgruppe - keine immunsuppressive Behandlung, Applikation von Kochsalzlösung i.p. für die Dauer von 5 Tagen nach Virusgabe.
2. Gruppe: FK 506 Gruppe - Applikation von 1 mg/kg/Tag FK 506 i.p. beginnend 1 Tag vor Virusgabe und danach für eine Dauer von 5 Tagen.



3. Gruppe: Cyclosporin A -Gruppe - Applikation von 20 mg/kg/Tag i.p. beginnend 1 Tag vor Virusgabe und danach für eine Dauer von 5 Tagen.
4. Gruppe: DSG-Gruppe - Applikation von 10 mg/kg/Tag i.p. beginnend 1 Tag vor Virusgabe und danach für die Dauer von 5 Tagen.
5. Gruppe: DSG ++ - Gruppe - Applikation von 10 mg/kg/Tag i.p. beginnend 1 Tag vor Virusgabe und danach für die Dauer von fünf Tagen täglich und anschließend zweimal wöchentlich für die Dauer von 150 Tagen.

NMRI-Mäuse wurden verwendet, da diese Mäuse durch ihre genetische Heterogenität ein immunologisches Reaktionsmuster entwickeln, das dem einer humanen Population näher kommt als reine Inzuchtstämme, der Preis ist eine erhöhte Variabilität in der Immunologischen Reaktionsfähigkeit. Trotzdem bilden die einzelnen Gruppen signifikante Reaktionsmuster aus.

Tabelle 1 zeigt die Mittelwerte des Serumsiegels von humanen  $\alpha_1$ -Antitrypsin.

Tabelle 1

Tage	FK 506	Cyclosporin A	Kontrolle	DSG	DSG++
5	1725000	1518750	1453750	2775000	2775000
10	1278750	660000	616250	1560000	677500
20	376250	264875	1055000	1826250	1178750
30	17475	77787	117812	1001250	1082500
60	4258	23875	37625	213500	297500
100	313	1876	12475	51750	68750
150	1,5	8	2425	13125	17125
200	1,5	1,5	1797	10625	14350

Bereits eine 5-tägige Behandlung mit DSG führt zu einer deutlichen Erhöhung und Verlängerung der Antitrypsinexpression. Der Mengenfaktor beträgt 15 Tage nach Absetzen von DSG etwa 1,8. Die kontinuierliche Behandlung (2 x wöchentlich) vermag diesen Effekt nicht mehr dramatisch zu steigern. Durch die kontinuierliche DSG-Behandlung wird die Expression nur geringfügig über die transiente Gabe gesteigert, aber der Antikörperload gegen virale Proteine wird etwa um 90 % nach 150 Tagen reduziert (siehe Tabelle 2). Bereits die transiente Gabe von DSG reduziert im Vergleich zur Kontrolle die Antikörperantwort um mehr als 60 % bei gleichzeitig deutlich positivem Effekt auf die Expression.

Tabelle 2: Mittlerer Antikörper-Titer

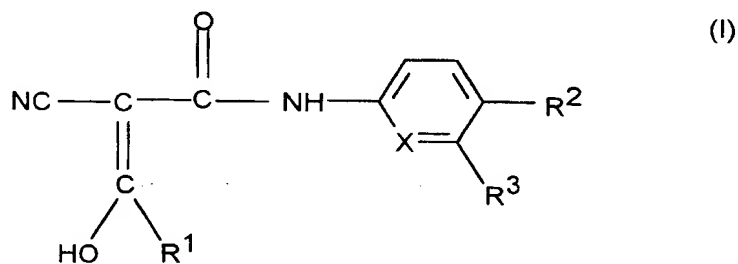
Tage	Kontrolle	DSG	DSG++	FK 506	Cyclosporin A
30	54188	26310	13005	65536	47923
100	59707	31029	11251	43832	32994
150	68555	25149	7335	25149	28588
200	45641	20586	9669	17710	26021

Interessant ist, daß die kurzfristige Gabe von FK 506 und Cyclosporin A kontraproduktiv im Sinne einer Langzeitexpression ist. Möglicherweise reagiert das Immunsystem mit einer überschießenden Aktivität nach Absetzen der Immunsuppressiva und eliminiert die transgenen Hepatozyten schneller als in der Kontrollgruppe.

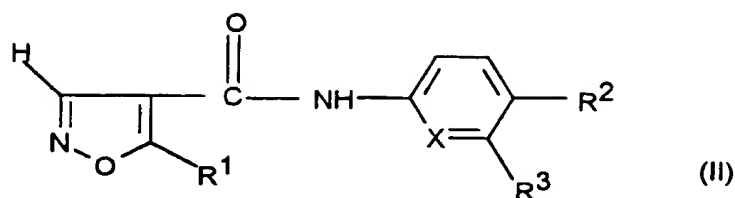
## Patentansprüche:

1. Verwendung eines Immunsuppressivums oder einer Kombination mehrerer Immunsuppressiva zur Herstellung eines Arzneimittels oder einer Arzneimittelkombination zur Erhöhung der Toleranz eines Säugetiers, insbesondere des Menschen, gegenüber transgenen Zellen, wobei die Verbindungen Cyclosporin A und FK 506 alleine eingesetzt ausgenommen sind.
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei primär die zelluläre Immunreaktion gegen die transgenen Zellen inhibiert wird.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei 15 Tage nach Absetzen dieses Arzneimittels oder dieser Arzneimittelkombination in den behandelten Säugetieren mehr als das 1,5 fache, bevorzugt mehr als doppelte, ganz besonders bevorzugt mehr als das 5fache an transgenem Expressionsprodukt erzeugt wird wie in Säugetieren einer nicht immunsuppremierten Kontrollgruppe.
4. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Arzneimittel oder die Arzneimittelkombination vor, während und/oder nach der Applikation der in vitro erzeugten transgenen Zellen oder der in vivo-Erzeugung der transgenen Zellen verabreicht wird.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die transgenen Zellen im Rahmen einer gentherapeutischen Behandlung erzeugt werden.
6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die gentherapeutische Behandlung eingesetzt wird zur Behandlung aller Erkrankungen, bei denen ein Protein oder Peptid nicht, unzureichend oder nur fehlerhaft im Körper des Säugetiers, insbesondere des Menschen, hergestellt wird.

7. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die gentherapeutische Behandlung eingesetzt wird zur Behandlung von angeborenen Erkrankungen wie der zystischen Fibrose, der familiären Hypercholesterinämie, der Hämophilie, der Sichelzellenanämie, von Nerven- und Hirnerkrankungen wie Parkinson-, Alzheimer- oder Jakob-Kreutzfeld-Syndrom; von rheumatischen Erkrankungen, Osteoarthritis, Osteoporose oder Arthrose, der Phenylketonurie; von Stoffwechselstörungen, wie Diabetes; von Entzündungen; von Krebserkrankungen; von Infektionserkrankungen, beispielsweise AIDS oder Hepatitis oder von Hormon- und Wachstumsstörungen.
8. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die gentherapeutische Behandlung eingesetzt wird, um einen Impfschutz zu erzeugen gegen Krankheitserreger wie Viren, Bakterien, Pilze, ein- und mehrzellige Parasiten sowie gegen entartete körpereigene Zellen wie Tumorzellen.
9. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Arzneimittel oder die Arzneimittelkombination oral, intravenös, subkutan, intraperitoneal, perkutan, kutan, topisch, inhalativ, intramuskulär, intrathekal, intraokulär, okulär, buccal, nasal oder rektal, bevorzugt intravenös oder oral verabreicht wird.
10. Verwendung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß eine Verbindung der Formel (I) oder (II)



15



und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I oder II und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

- $R^1$  für a)  $(C_1-C_4)$ -Alkyl,  
 b)  $(C_3-C_5)$ -Cycloalkyl,  
 c)  $(C_2-C_6)$ -Alkenyl oder  
 d)  $(C_2-C_6)$ -Alkynyl, steht,
- $R^2$  für a)  $-CF_3$ ,  
 b)  $-O-CF_3$ ,  
 c)  $-S-CF_3$ ,  
 d)  $-OH$ ,  
 e)  $-NO_2$ ,  
 f) Halogen,  
 g) Benzyl,  
 h) Phenyl,  
 i)  $-O$ -Phenyl,  
 k)  $-CN$  oder  
 l)  $-O$ -Phenyl, ein oder mehrfach substituiert mit
- 1)  $(C_1-C_4)$ -Alkyl,
  - 2) Halogen,
  - 3)  $-O-CF_3$  oder
  - 4)  $-O-CH_3$ , steht,
- $R^3$  für a)  $(C_1-C_4)$ -Alkyl,  
 b) Halogen, oder  
 c) ein Wasserstoffatom steht, und
- X für a) eine  $-CH$ -Gruppe oder  
 b) ein Stickstoffatom, steht

zur Herstellung des Arzneimittels oder der Arzneimittelkombination allein

oder in Kombination auch mit anderen pharmakologisch wirksamen Substanzen, insbesondere anderen Immunsuppressiva., eingesetzt wird.

11. Verwendung gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung der Formel I und/oder II und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I oder II und/oder ein Salz der Verbindung der Formel I, wobei
- R<sup>1</sup> für a) Methyl,  
b) Cyclopropyl oder  
c) (C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkynyl steht,  
R<sup>2</sup> für -CF<sub>3</sub> oder -CN steht,  
R<sup>3</sup> für Wasserstoffatom oder Methyl steht, und  
X für eine -CH- Gruppe steht, eingesetzt wird.
12. Verwendung gemäß Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, daß N-(4-Trifluormethylphenyl)-5-methyl-isoxazol-4-carboxamid, N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyan-3-hydroxy-crotonsäureamid, 2-Cyan-3-cyclopropyl-3-hydroxy-acrylsäure-(4-cyanophenyl)-amid oder N-(4-Trifluormethylphenyl)-2-cyan-3-hydroxy-hept-2-en-6-in-carbonsäureamid eingesetzt wird.
13. Verfahren zum Identifizieren eines geeigneten Immunsuppressivums oder einer Kombination mehrerer Immunsuppressiva, die die Toleranz eines Säugetiers gegenüber transgenen Zellen erhöhen, dadurch gekennzeichnet, daß die Menge an in vivo erzeugtem transgenen Expressionsprodukt nach Absetzen des Immunsuppressivums gemessen wird, in Bezug zur Menge an transgenem Expressionsprodukt, die von nicht immunsuppremierten Säugetieren einer entsprechenden Kontrollgruppe erzeugt wurde, in Beziehung gesetzt wird und als Auswahlkriterium ein Mengenfaktor von mehr als 1 eingesetzt wird.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß als zeitlicher Bezugspunkt für die Mengenfaktorbestimmung ein Tag nach dem 10.,

bevorzugt nach dem 20., besonders bevorzugt nach dem 30. Tag, ganz besonders bevorzugt nach dem 50. Tag nach Absetzen des Immunsuppressivums herangezogen wird.

15. Verfahren nach Anspruch 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Mengenfaktor größer als 1,5, bevorzugt größer als 2, besonders bevorzugt größer als 5, ganz besonders bevorzugt größer als 10 ist.





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/01438

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/42 A61K31/275

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HAYASHI ET AL.: "Adenovirus-Mediated Gene Transfer To The Xenogeneid Liver in Liver Xenotransplantation: The Transduction of Complement Regulatory Factor Genes (DAF and HRF20)" CELL TRANSPLANTATION, vol. 5, no. 5 suppl 2, 1996, page 73 XP002074074	1-6
Y	see the whole document	10-12
X	WO 96 40170 A (PROCEPT INC) 19 December 1996	1-5, 13-15
Y	see abstract; claims 3,10,13	10-12
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 August 1998

Date of mailing of the international search report

25/08/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

A. Jakobs

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/01438

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>GREENE ET AL.: "INHIBITION OF DIHYDROOROTATE DEHYDROGENASE BY THE IMMUNOSUPPRESSIVE AGENT LEFLUNOMIDE" BIOCHEM. PHARMACOL., vol. 50, no. 6, 1995, pages 861-867, XP002074075</p>	1-7
Y	<p>see abstract; figures 1,2</p>	10-12
X	<p>BARTLETT ET AL.: "Leflunomide (HWA 486), a novel immunomodulating compound for the treatment of autoimmune disorders and reactions leading to transplantation rejection" AGENTS ACTIONS, vol. 32, no. 1-2, 1991, pages 10-21, XP002074076</p> <p>see abstract; tables 1-4</p>	1-5,7-12
X	<p>SOLBACH ET AL.: "PROTECTIVE EFFECT OF LEFLUNOMIDE ON THE NATURAL COURSE OF LEISHMANIA MAJOR-INDUCED DISEASE IN GENETICALLY SUSCEPTIBLE BALB/c MICE" INT. J. IMMUNOPHARMACOL., vol. 17, no. 6, 1995, XP002074077</p> <p>see abstract; figure 1; table 1</p>	1-5,8, 10-12
X	<p>KALDEN ET AL.: "New therapeutic approaches in autoimmune rheumatic diseases, with special emphasis on rheumatoid arthritis" BRITISH J. RHEUMATOL., vol. 34, no. 3, 1995, pages 193-196, XP002074078</p> <p>see page 193, column 1, paragraph 2; table 1</p>	1-5,7, 10-12
X	<p>ZIELINSKI T ET AL: "LEFLUNOMIDE, A REVERSIBLE INHIBITOR OF PYRIMIDINE BIOSYNTHESIS?" INFLAMMATION RESEARCH, vol. 44, no. 2, August 1995, page S207/S208 XP002061643</p> <p>see abstract</p>	1-5,8
X	<p>EP 0 607 775 A (HOECHST AG) 27 July 1994</p> <p>see claims 1-4</p>	1-5,7,8
X	<p>REYNOLDS: "MARTINDALE - THE EXTRA PHARMACOPOEIA." 1996, ROYAL PHARMACEUTICAL SOCIETY, LONDON XP002074427 224540</p> <p>see page 557-562 - page 599-600</p>	1
	-/--	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/01438

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	EP 0 821 952 A (HOECHST AG) 4 February 1998 see claims 4,8,10 ---	1-5,7-12
P,X	BURG G.: "Dermatologie 1997: Immunintervention auf dem Vormarsch" SCHWEIZERISCHE MEDIZINISCHE WOCHENSCHRIFT, vol. 128, no. 1-2, 1998, pages 18-20, XP002074079 see page 19, column 1, paragraph 3 ---	1-5,7
A	EP 0 551 230 A (ROUSSEL UCLAF) 14 July 1993 see the whole document -----	10-12

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 98/01438

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
See supplemental sheet additional matter PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/01438

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9640170 A	19-12-1996	NONE	
EP 0607775 A	27-07-1994	JP 6234635 A US 5556870 A	23-08-1994 17-09-1996
EP 0821952 A	04-02-1998	DE 19640555 A AU 3236897 A JP 10087484 A	02-04-1998 05-02-1998 07-04-1998
EP 0551230 A	14-07-1993	AT 125252 T AU 652088 B AU 3103593 A BR 9300035 A CA 2086908 A CN 1079216 A,B CZ 9203826 A DE 69300261 D DK 551230 T ES 2074916 T FI 930048 A IL 104225 A JP 5310672 A NO 179444 B NZ 245631 A US 5308865 A ZA 9300134 A	15-08-1995 11-08-1994 15-07-1993 13-07-1993 09-07-1993 08-12-1993 16-03-1994 24-08-1995 10-03-1997 16-09-1995 09-07-1993 04-01-1998 22-11-1993 01-07-1996 22-12-1994 03-05-1994 10-01-1994



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In. ationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/01438

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 A61K31/42 A61K31/275

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HAYASHI ET AL.: "Adenovirus-Mediated Gene Transfer To The Xenogeneid Liver in Liver Xenotransplantation: The Transduction of Complement Regulatory Factor Genes (DAF and HRF20)" CELL TRANSPLANTATION, Bd. 5, Nr. 5 suppl 2, 1996, Seite 73 XP002074074	1-6
Y	siehe das ganze Dokument	10-12
X	WO 96 40170 A (PROCEPT INC) 19. Dezember 1996	1-5, 13-15
Y	siehe Zusammenfassung; Ansprüche 3,10,13	10-12
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. August 1998

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

25/08/1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

A. Jakobs

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In nationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/01438

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GREENE ET AL.: "INHIBITION OF DIHYDROOROTATE DEHYDROGENASE BY THE IMMUNOSUPPRESSIVE AGENT LEFLUNOMIDE" BIOCHEM. PHARMACOL., Bd. 50, Nr. 6, 1995, Seiten 861-867, XP002074075	1-7
Y	siehe Zusammenfassung; Abbildungen 1,2	10-12
X	BARTLETT ET AL.: "Leflunomide (HWA 486), a novel immunomodulating compound for the treatment of autoimmune disorders and reactions leading to transplantation rejection" AGENTS ACTIONS, Bd. 32, Nr. 1-2, 1991, Seiten 10-21, XP002074076 siehe Zusammenfassung; Tabellen 1-4	1-5,7-12
X	SOLBACH ET AL.: "PROTECTIVE EFFECT OF LEFLUNOMIDE ON THE NATURAL COURSE OF LEISHMANIA MAJOR-INDUCED DISEASE IN GENETICALLY SUSCEPTIBLE BALB/c MICE" INT. J. IMMUNOPHARMACOL., Bd. 17, Nr. 6, 1995, XP002074077 siehe Zusammenfassung; Abbildung 1; Tabelle 1	1-5,8, 10-12
X	KALDEN ET AL.: "New therapeutic approaches in autoimmune rheumatic diseases, with special emphasis on rheumatoid arthritis" BRITISH J. RHEUMATOL., Bd. 34, Nr. 3, 1995, Seiten 193-196, XP002074078 siehe Seite 193, Spalte 1, Absatz 2; Tabelle 1	1-5,7, 10-12
X	ZIELINSKI T ET AL: "LEFLUNOMIDE, A REVERSIBLE INHIBITOR OF PYRIMIDINE BIOSYNTHESIS?" INFLAMMATION RESEARCH, Bd. 44, Nr. 2, August 1995, Seite S207/S208 XP002061643 siehe Zusammenfassung	1-5,8
X	EP 0 607 775 A (HOECHST AG) 27. Juli 1994 siehe Ansprüche 1-4	1-5,7,8
X	REYNOLDS: "MARTINDALE - THE EXTRA PHARMACOPOEIA. " 1996, ROYAL PHARMACEUTICAL SOCIETY, LONDON XP002074427 224540 siehe Seite 557-562 - Seite 599-600	1
	--- -/--	



# INTERNATIONALES RESEARCHENBERICHT

Ir. ationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/01438

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	EP 0 821 952 A (HOECHST AG) 4. Februar 1998 siehe Ansprüche 4,8,10 ---	1-5,7-12
P,X	BURG G.: "Dermatologie 1997: Immunintervention auf dem Vormarsch" SCHWEIZERISCHE MEDIZINISCHE WOCHENSCHRIFT, Bd. 128, Nr. 1-2, 1998, Seiten 18-20, XP002074079 siehe Seite 19, Spalte 1, Absatz 3 ---	1-5,7
A	EP 0 551 230 A (ROUSSEL UCLAF) 14. Juli 1993 siehe das ganze Dokument -----	10-12

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/01438

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr. —  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

2. ☒ Ansprüche Nr. —  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

Siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210

3. ☐ Ansprüche Nr. —  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.

2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. —

4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

In internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/01438

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9640170	A	19-12-1996	KEINE		
EP 0607775	A	27-07-1994	JP	6234635 A	23-08-1994
			US	5556870 A	17-09-1996
EP 0821952	A	04-02-1998	DE	19640555 A	02-04-1998
			AU	3236897 A	05-02-1998
			JP	10087484 A	07-04-1998
EP 0551230	A	14-07-1993	AT	125252 T	15-08-1995
			AU	652088 B	11-08-1994
			AU	3103593 A	15-07-1993
			BR	9300035 A	13-07-1993
			CA	2086908 A	09-07-1993
			CN	1079216 A,B	08-12-1993
			CZ	9203826 A	16-03-1994
			DE	69300261 D	24-08-1995
			DK	551230 T	10-03-1997
			ES	2074916 T	16-09-1995
			FI	930048 A	09-07-1993
			IL	104225 A	04-01-1998
			JP	5310672 A	22-11-1993
			NO	179444 B	01-07-1996
			NZ	245631 A	22-12-1994
			US	5308865 A	03-05-1994
			ZA	9300134 A	10-01-1994

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**